FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1966

THÈSE

449 (N)

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Marlyne SASPORTES

née le 8 février 1937 - ALGER

Externe des Hôpitaux d'ALGER

Présentée et soutenue publiquement le :

ETUDE DES ANTIGENES D'HISTOCOMPATIBILITE CHEZ L'HOMME PAR LA CULTURE MIXTE DE LYMPHOCITES IMMUNS ET NON IMMUNS

Président : Monsieur Jean BERNARD, Professeur

COPEDITH, 70, Rue de Flandre - PARIS 19è

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546026_0034

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1966 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

Marlyne SASPORTES

née le 8 février 1937 - ALGER

Externe des Hôpitaux d'ALGER

Présentée et soutenue publiquement le :

ETUDE DES ANTIGENES D'HISTOCOMPATIBILITE CHEZ L'HOMME PAR LA CULTURE MIXTE DE LYMPHOCITES IMMUNS ET NON IMMUNS

Président : Monsieur Jean BERNARD, Professeur

COPEDITH, 70, Rue de Flandre - PARIS 19è

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

1/1/1966

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN . . . . . Georges BROUET.
1er ASSESSEUR. . . . . Daniel BARGETON
2e ASSESSEUR. . . . . Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

	MM.
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)

b) **Professeurs à titre personnel :**

Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.) / DREYFUS (J.-Cl.)
Biologie médicale	BOURLIÈRE (F.)
Histologie	COUJARD (R.)
Parasitologie	LARIVIÈRE (M.)
Pathologie expérimentale	LOEPER (J.) / RICHET (G.)
Physiologie	DEJOURS (P.) / ROUCAYROL (J.-Cl.) / SCHERRER (J.)
Physique médicale	KELLERSHOHN (L.) / GOUGEROT (L.) / TUBIANA (M.)
Radiologie médicale	FISCHGOLD (H.)

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) **Professeurs titulaires :**

		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)		LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	—	N...
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
— — — (Foch)		PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		DUBOST (Ch.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		MATHEY (J.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)		DUPERRAT (F.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DECOURT (J.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		LAMY (M.)
Clinique gynécologique (Broca)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		BERNARD (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		CASTAIGNE (P.)
Cliniques médicales	Bicêtre	DEPARIS (M.)
	Broussais	MILLIEZ (P.)
	Cochin	BROUET (G.)
	Hôtel-Dieu	BARIÉTY (M.)
	Lariboisière	SÈZE (S. de)
	Pitié	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
	Saint-Antoine	BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales — Baudelocque	LACOMME (M.)
Cliniques obstétricales — Saint-Antoine	MERGER (R.)
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	VARANGOT (J.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	OFFRET (G.)
— — (Cochin)	BREGEAT (P.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	AUBRY (M.)
Clinique de pédiatrie	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	THIEFFRY (S.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	COSTE (F.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	ROUX (M.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	LEMAIRE (A.)
Clinique toxicologique	GAULTIER (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	JUDET (R.)
Clinique urologique (Cochin)	ABOULKER (P.)
— — (Necker)	COUVELAIRE (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	LAPLANE (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	DOMART (A.)
— — (Lariboisière)	BOUVRAIN (Y.)
— — (Pitié)	RAMBERT (P.)
— — (Rothschild)	WOLFROMM (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	POILLEUX (F.)

b) **Professeurs à titre personnel :**

Hématologie	ANDRÉ (R.)
	BOUSSER (J.)
Hydrologie et climatologie	GIBERTON (A.)
Maladies infectieuses	BASTIN (R.)
Médecine	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	POLONOVSKI (Cl.)
	ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.)
	MEYER (A.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Biochimie médicale	CARTIER (P.) GONNARD (P.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (S.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Physique médicale	COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Physiologie	GIRARD (Fr.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique	SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateurs	Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A la mémoire de mon Père

A la mémoire de mon Frère JAMES

A mes Parents.

A mon Maître,

Monsieur le Professeur Jean BERNARD,

qui m'a fait l'honneur d'accepter la
présidence de cette thèse,

En témoignage de mon profond respect

A mon Maître,

Monsieur le Professeur Jean DAUSSET,

Qu'il trouve ici l'expression de mon profond attachement et de ma gratitude pour l'accueil qu'il m'a réservé dans son service et la confiance dont il a bien voulu m'honorer en me permettant de réaliser ce travail.

A mon Maître

Monsieur le Professeur Jacques COLOMBANI,

Pour les conseils et l'enseignement qu'il m'a prodigués et dont je lui suis très redevable.

A mes Amis

Madame le Docteur Dagmar IVANYI
Madame le Docteur Milena RYCHLIKOVA
Monsieur le Docteur Paul IVANYI

En remerciement de l'aide qu'ils m'ont apportée.

A mes Maîtres dans les Hôpitaux d'ALGER.

A mes Maîtres dans les Hôpitaux de PARIS.

HISTORIQUE

- Le rôle des tissus lymphoïdes dans la défense de l'organisme est connu depuis fort longtemps. On sait par example qu'ils peuvent agir comme des filtres en empêchant l'entrée dans la circulation sanguine de substances toxiques.

- On leur reconnaît par ailleurs la capacité de produire des anticorps, et ceci avait été mis en évidence dès 1898 par PFEIFFER et al, qui avaient montré que des extraits spléniques de lapins sacrifiés cinq jours après une injection de vibrions, possédaient une teneur en anticorps supérieure à celle du sérum. D'autres chercheurs, par des techniques analogues, en utilisant comme antigènes des bactéries (19), des érythrocytes hétérologues (17), ou des virus (44) avaient prouvé l'existence d'anticorps dans les ganglions lymphatiques. Le fait que la lymphe efférente en provenance d'un ganglion lymphatique avait un titre en anticoprs supérieur à celui de la lymphe afférente indiquait bien que la production d'anticorps se faisait à l'intérieur du ganglion (19).

- Des travaux effectués en culture de tissu in "vitro" ont confirmé ces faits expérimentaux : en effet, la production d'anticorps in "vitro" par la rate ou les ganglions lymphatiques d'animaux immunisés a été fréquemment observée (24) (55) . A l'origine, on pensait que les cellules phagocytaires des tissus lymphoïdes étaient responsables de la production d'anticorps parce que l'on pouvait voir dans les ganglions lymphatiques des bactéries à l'intérieur des macrophages. En bloquant le système réticulo-endothélial par une injection préalable de matériel approprié, on observait une décroissance dans la formation d'anticorps à la suite de l'injection de l'antigène.

- Il était aussi normal de suspecter les lymphocytes d'être à l'origine de la formation des anticorps puisque la plupart des cellules de la rate ou des ganglions sont des lymphocytes. On a montré que les cellules ganglionnaires lymphoïdes d'animaux immunisés, représentées, en grande partie par des lymphocytes, pouvaient soit contenir, soit produire des anticorps (52). Mais du fait de l'existance d'autres types cellulaires dans les ganglions, ces expériences ne sont pas concluantes. De même les cellules du canal thoracique constituées presque exclusivement de lymphocytes ne produisent qu'une faible portion de la quantité totale obtenue lors d'une réponse immunitaire (31).

- Par ailleurs, une des modifications les plus caractéristiques des tissus lymphoïdes à la suite d'une immunisation est bien leur accroissement en cellules de type plasmocytaire. FAGREUS (25) a montré d'une façon convaincante le rôle des plasmocytes et de leurs précurseurs appelés : "Transition cells" dans la production des anticorps. Leur structure, leur composition, leur affinité pour les colorants basiques tels que la pyronine, sont autant d'arguments en faveur de cette hypothèse. La basophilie de leur cytoplasme due à la présence d'acide ribonucléïque indique bien la poursuite d'une activité de synthèse que possèdent seuls les éléments jeunes des autres lignées sanguines. L'étude au microscope électronique de leur cytoplasme a montré la présence d'un appareil de sécrétion : Golgi très développé et surtout ergastoplasme. On a pu voir que le nombre de plasmocytes est beaucoup plus élevé au cours d'une réponse secondaire qu'au cours d'une réponse primaire, en accord avec l'accroissement plus important en anticorps obtenu à la suite de la seconde injection d'un antigène (41). Un des problèmes non résolus du mécanisme de la production des anticorps demeure celui de l'acquisition de l'information nécessaire à la synthèse des anticorps et qui est représentée par la capture de l'antigène.
Ici semblent intervenir les macrophages qui pourraient être responsables de l'incorporation initiale de l'antigène comme certains auteurs l'ont suggéré. FISHMANN (27) a démontré dans un système entièrement in "vitro" la production

d'anticorps en incubant un antigène avec des macrophages. Des cellules ganglionnaires, mises en culture avec des filtrats acellulaires préparés à partir de ces macrophages produisaient des anticorps; la ribonucléase inhibait la formation d'anticorps suggérant que des complexes antigènes et RNA étaient probablement transférés des macrophages aux cellules ganglionnaires pour stimuler leur production d'anticorps.

THIERY (58) dans des études faites au microscope électronique a observé des macrophages entourés de plasmocytes et les projections cytoplasmiques de ces macrophages s'invaginant dans le cytoplasme des plasmocytes.

La controverse opposant les lymphocytes aux plasmocytes dans la production des anticorps, a été largement résolue en faveur de ces derniers, sans toutefois que l'on puisse refuser aux lymphocytes leur rôle de cellules immunologiquement compétentes.

La plupart des lymphocytes du sang périphérique sont des petits lymphocytes de 6 à 9μ de diamètre, ayant un rapport nucléo-plasmatique très élevé, leur cytoplasme se réduit à un filet périnucléaire alors que le noyau volumineux à chromatine dense, sombre, constituant des blocs très compacts, occupe toute la superficie de la cellule. Les grands lymphocytes, de plus grande taille (9 à 16(μ), ont un noyau identique à celui du petit lymphocyte, mais un cytoplasme bleu très clair contenant parfois des granulations azurophiles. Les études au microscope électronique ont révélé la présence de mitochondries, d'un nucléole, d'une zone de Golgi, de centrioles et d'une petite quantité de réticulum endoplasmique.

Il est difficile d'assigner une fonction au petit lymphocyte : il peut avoir quelque activité phagocytaire mais d'autres cellules comme les neutrophiles, les monocytes sont beaucoup plus activement phagocytaires. Ils produisent probablement quelques anticorps mais seulement une fraction de la quantité que les plasmocytes peuvent produire (45). On a pu le démontrer dans les expériences de culture d'une seule cellule, ou dans celles relatant la production des anticorps in "vitro" (10).

Quelques auteurs ont considéré le lymphocyte comme une cellule multipotentielle capable de se transformer en différents types cellulaires dont les fonctions sont connues : Les transformations en cellules phagocytaires, en cellules de la série myeloïde, en éléments érythocytaires ont été décrites (61). MAXIMOV a été l'un des premiers tenants de la théorie selon laquelle les lymphocytes peuvent devenir des cellules phagocytaires sous l'influence

d'un stimulus inflammatoire. Dans les expériences en culture de tissu des lymphocytes du sang périphérique, il a montré que les lymphocytes deviennent des cellules phagocytaires ou "polyblastes", qui se transforment plus tard en fibroblastes et en d'autres cellules de connexion tissulaire. Plus tard d'autres auteurs ont confirmé les observations de MAXIMOV en provoquant une inflammation in "vivo" (18) et en cultivant soit des ganglions (9) soit du sang périphérique in "vitro". (26)

Bien que les lymphocytes du sang périphérique ne contiennent pas normalement d'anticorps ils peuvent induire des réponses immunologiques du type hypersensibilité retardée quand ils sont injectés in "vivo".

Le transfert (39) de la sensibilité à la tuberculine de donneurs positifs à des receveurs négatifs a été réalisé avec des leucocytes du sang périphérique et les lymphocytes du canal thoracique (60).

Les lymphocytes du sang périphérique peuvent induire une immunité de transplantation. Ils ont la capacité d'abolir la tolérance (7) : c'est ce qui a été démontré par le rejet accéléré d'homogreffes tolérées chez les souris à la suite de l'inoculation de leucocytes ou de cellules lymphoïdes ganglionnaires de donneurs isologues immunisés. Ils peuvent provoquer des réactions de l'hôte contre le greffon (20), comme en témoigne le fait que des suspensions de cellules lymphoïdes de la rate, du sang, des ganglions; d'une lignée parentale de rats adultes, injectées sous la capsule rénale d'hôtes F1 hybrides envahissent et détruisent le cortex rénal sous-jacent.

L'évolution fatale du"syndrome secondaire" ou " runt disease" chez les rats nouveaux-nés est rapportée au nombre de petits lymphocytes injectés (49).

Des lymphocytes du sang périphérique injectés par voie intra-dermique peuvent aussi provoquer une réaction inflammatoire que l'on considère comme étant en relation avec l'immunité de transplantation. (8). (30).

Dans toute ces situations, les lymphocytes se seraient donc comportés en cellules immunologiquement compétentes.

On a aussi montré que les plasmocytes dérivaient de cellules réticulaires souches de la moelle et des ganglions, mais ils ont peut-être d'autres origines, l'une d'entre elle étant le lymphocyte ( ). Les noyaux des lymphocytes et des plasmocytes sont très similaires et l'on a décrit la transformation de petits lymphocytes en plasmocytes par une augmentation de la quantité et de la basophilie de leur cytoplasme.

- Un des faits les plus interessants de ces dernières années a été la découverte de la dédifférentiation du petit lymphocyte in "vitro" en une cellule primitive capable de mitoses et pourvue de certaines propriétés immunologiques. Les premières observations apparaissent alors dans la littérature (1). (51) . ROBBINS (51) utilise le terme de "blastogénèse" pour traduire les changements morphologiques de ces types.

- NOWELL (46) fut le premier à montrer que la phytohémagglutinine ajoutée à des cultures de lymphocytes du sang périphérique stimule certains d'entre eux qui acquièrent des propriétés mitotiques. Cette technique est maintenant largement utilisée dans l'étude des chromosomes chez l'homme et chez les animaux.

La phytohémagglutinine (PHA) est un extrait de graine de haricot rouge : " Phaseolus vulgaris" ou d'espèces très voisines, en plus de ses propriétés mitogènes elle agglutine les érythrocytes et les leucocytes.

On ne sut pas tout d'abord qu'elles étaient les cellules susceptibles de se transformer en présence de phytohémagglutinine en cellules d'aspect blastique en culture de sang périphérique. Dans des études cinétiques faites avec de la thymidine tritiée, Mac KINNEY et al (43) ont montré que ces cellules blastiques provenaient de la transformation d'une large population cellulaire plutôt que de celle d'une petite population, or les seuls mononucléaires en nombre suffisant étaient représentés par les patits lymphocytes.

D'autres auteurs ont confirmé ces premières observations en montrant qu'ils avaient obtenu un pourcentage de transformations conséquent après addition de PHA dans des cultures contenant une proportion de 90% de petits lymphocytes (11) (53) et que ni les neutrophiles ni les monocytes ne semblaient être affectés par la PHA. D'autre part l'analogie d'aspect des cellules transformées par la PHA et des précurseurs des plasmocytes suggera que la PHA agissait comme un antigène pour stimuler les éléments lymphoïdes immunologiquement compétents du sang (48). Par des techniques appropriées on a démontré que la PHA, par son action de stimulation, induisait chez les lymphocytes du sang périphérique la production de gamma-globulines in "vitro" (21). (2).

Une action cytotoxique des lymphocytes, induite par la PHA, à l'encontre de cellules foetales rénales humaines, de cellules HELA (36) et de fibroblastes humains (1) a pu également être mise en évidence.

- D'autres substances, bien qu'à un degré moindre peuvent avoir une action comparable à celle de la PHA: La tuberculine fut un des premiers antigènes à induire des transformations et des mitoses dans les cultures de lymphocytes (48) (58). Ce phénomène n'était observé que dans le cas où le donneur de cellules avait été préalablement sensibilisé à la tuberculine. D'autres antigènes ont un comportement similaire vis à vis de lymphocytes de donneurs sensibilisés, c'est le cas de vaccines variées (21) (22) (43), d'allergènes tels que le pollen (43), de la pénicilline (34). De même, les lymphocytes détruits autologues de sujets souffrant de maladies autoimmunes se comportent de façon identique. (32)

Certaines fractions subcellulaires d'extraits de lymphocytes de sang périphérique ont un pouvoir mitogène sur des cultures de lymphocytes homologues (33). KASAKURA et LOWENSTEIN ont récemment montré que le milieu de culture provenant de leucocytes humains périphériques cultivés in "vitro" stimulait la blastogénèse de culture de leucocytes allogéniques. Tous ces antigènes n'affectent qu'une petite portion de lymphocytes alors que la PHA transforme presque tous les lymphocytes. On s'est donc demandé si la PHA agissait comme un antigène ou moins spécifiquement en s'attachant à des structures soit superficielle cielles soit internes du lymphocyte. (2) (29) Il semble que la plupart des auteurs s'accordent à reconnaître la non spécificité d'action de la PHA.

- Le rôle du lymphocyte dans la défense de l'organisme est renforcé par le fait qu'il circule du sang vers la lymphe. Cette circulation qui a pu être prouvée, le met en contact avec les matériaux étrangers qui entrent dans l'organisme, sont transportés, des lymphatiques périphériques vers les ganglions où ils sont phagocytés.

Si on injecte par voie intraveineuse à des rats isologues des lymphocytes marqués, ceux-ci sont retrouvés quinze minutes plus tard dans les parois des veinules ganglionnaires. Le lendemain ils ont peuplé ganglions, plaques de Peyer, tous les organes lymphocytaires sauf le thymus.

Les lymphocytes sanguins peuvent atteindre les ganglions par deux voies (63) ils peuvent soit entrer diredtement des petits vaisseaux à l'intérieur des ganglions, soit se rendre des capillaires aux espaces tissulaires et ensuite dans les lymphatiques périphériques menant aux ganglions.

- Les petits lymphocytes sont à coup sûr intéressés dans les mécanismes immunitaires. On a montré qu'ils répondaient à des antigènes in

"vitro" en engendrant une dédifférentiation, par ailleurs il parait probable qu'ils fabriquent des anticorps dans ces conditions.
In "vivo" ils circulent du sang vers les ganglions où ils sont en contact avec des antigènes et sont probablement stimulés pour produire des anticorps. Les petits lymphocytes véritable mémoire immunologique, clones en attente d'un nouveau stimulus, doivent être considérés comme faisant partie du système de cellules immunologiquement compétentes et les études des lymphocytes du sang périphérique faites in 'vitro" peuvent renseigner de façon utile sur les processus immunologiques qui se produisent in vivo.

-:-:-:-:-:-:-:-:-

LA CULTURE MIXTE DES LYMPHOCYTES
- non immuns
- immuns

Nous avons déjà vu que la phytohémagglutinine et d'autres antigènes spécifiques auxquels le donneur de cellules a été préalablement sensibilisé, étaient capables de stimuler les petits lymphocytes du sang périphérique et de les transformer en cellules d'aspect blastique in "vitro".

Une réponse identique (4) (34) est obtenue quand on met en culture les lymphocytes du sang périphérique de deux sujets pris au hasard : culture mixte de lymphocytes (CML). Le phénomène se produit sans pourtant qu'une sensibilisation préalable ne soit intervenue, du moins dans l'état actuel de nos connaissances.

Si la même expérience est exécutée parmi des paires apparentées, le pourcentage de transformations est plus faible, et s'il s'agit de jumeaux monozygotes, aucune transformation (34) n'est visible. (5) (6)

Ces faits ont contribué à faire accepter le fonlement génétique de la transformation lymphocytaire in "vitro". C'est ainsi que l'on a proposé d'explorer la culture mixte de lymphocytes dans le sens d'un test potentiel d'histocompatibilité in "vitro" (5). (3)

Ce point de vue a été renforcé par le fait que l'on a pu montrer chez les animaux, les singes en particuliers, (37) et chez l'homme (47) que le nombre de cellules transformées dans la CML de sujets ayant reçu une greffe de peau, augmente au moment du rejet de la greffe.

Depuis la description du premier groupe d'isoantigène leucocytaire par DAUSSET (1958) (13), on s'efforce de démontrer que les antigènes de groupe décelés sur les leucocytes, et dont la détermination a eu pour point de départ la découverte d'isoanticorps dans le sérum de polytransfusés et de femmes

multipares, sont au moins partiellement identiques aux isoantigènes d'histocompatibilité qui sont à l'origine de l'immunité de transplantation. Un travail considérable a été accompli dans ce sens (14).

Il a été en effet prouvé que certains antigènes leucocytaires humains représentent des antigènes d'histocompatibilité (15) (16) (54).
En même temps une corrélation significative entre quelques antigènes leucocytaires (1, 2, 3, 7) et le résultat de la CML a été trouvée (15).

- C'est ce que nous allons envisager en détail dans un premier temps. Nous examinerons ultérieurement le comportement de la CML en regard de lymphocytes de sujets immunisés.

I - LA CML ET LES LYMPHOCYTES NON IMMUNS

MATERIEL & METHODE

Les détails de l'identification des antigènes leucocytaires sont décrits ailleurs (15).
Tous les individus de l'expérimentation présente sont des membres d'un "panel" de sujets pris au hasard qui ont été étudiés dans les travaux précédemment cités et typés pour les antigènes leucocytaires de 1 à 10.

Pour la CML, la méthode d' HIRSCHHORN (35) légèrement modifiée a été utilisée.
30 à 40 cc de sang veineux de chacun des donneurs sont prélevés dans une fiole d'Erlenmayer contenant des billes de verre et sont défibrinés par un mouvement giratoire durant dix minutes.
Le sang défibriné est ensuite sédimenté dans des tubes contenant une solution fluide modifiée isotonique de gélatine (plasmagel de Roger BELLON environ 7cc pour 20 ml de sang) à 37°. Les tubes sont laissés dix minutes sous un angle de 15°, dix minutes encore à 45° et enfin dix minutes en position verticale.
Le surnageant prélevé est ensuite mélangé à parties égales à du milieu de Eagle , additionné de 10% de sérum de veau embryonnaire et de 10% de sérum de veau, le tout étant mis dans des flacons plats qui sont ensuite laissés à l'étuve 45 minutes sur un des côtés plats du flacon et 45 minutes sur l'autre côté pour permettre le collage au verre des polynucléaires.
La suspension appauvrie en polynucléaire est ensuite transférés dans des tubes à centrifuger, et centrifugée à 700 RPM pendant 10 minutes.

Le surnageant est ensuite rejeté et toutes les cellules d'un donneur sont resuspendues dans 5 ml de milieu.
Les cellules sont comptées et ajustées à une concentration finale de 1 million de lymphocytes par ml.
Les suspensions cellulaires sont ensuite distribuées dans des tubes tests de 10 x 150 mm comme suit :

a) Contrôles négatifs : 4 ml de chaque donneur seul.
b) Contrôles positifs : 4 ml de chaque donneur avec 0,1 ml de PHA (Difco M).
c) Mixtures : 4 ml constitué par 2 ml de chacun des donneurs.

Les cultures sont incubées à l'étuve à 37°c, Les contrôles positifs pour 3 jours les autres pour 7 jours.
Après l'incubation les tubes contenant les cultures sont de nouveau centrifugés pour 10 minutes à 700 RPM, le surnageant est ensuite retiré et le sédiment remis en suspension dans environ 3 ml d'eau physiologique avec une goutte de fixateur ou Carnoy (3 parts d'alcool éthylique et 1 part d'acide acétique), nouvelle centrifugation des tubes à 700 RPM I0 minutes rejet du surnageant et resuspension du sédiment par agitation dans 3 ml de Carnoy pur préparé extemporanément.
Les tubes de culture sont alors laissés à température du laboratoire I0 minutes, à la suite de quoi une nouvelle centrifugation de 7 minutes à 900 RPM intervient.
Le surnageant est retiré à l'exception de quelques gouttes qui permettent la resuspension du culot cellulaire que l'on reprend à l'aide d'une pipette Pasteur et que l'on étale en soufflant légèrement sur une lame préalablement glacée.
Après séchage les lames sont colorées par le May-Grunwald-Giemsa. Un procédé identique est utilisé quand la population cellulaire de l'un des deux membres d'une paire d'individus est tuée par congélations décongélations rapides cinq fois de suite et mélangée à la population vivante de l'autre membre de la paire.
Un compte différentiel d'au moins 1 000 cellules est alors pratiqué pour chaque lame à l'immersion et le nombre relatif de mitoses et de cellules blastiques évaluées d'après les critères classiques de jeunesse cellulaire (chromatine réticulée, présence de nucléoles, cytoplasme bleuté, accroissement de la taille des cellules) est rapporté. Les résultats sont exprimés en pourcentage de transformations.

Tous les échantillons additionnés de PHA ont une positivité allant de 40 à 75 % de transformation. La moyenne des contrôles négatifs est de 1,8 % (ordre de grandeur de 0,1 à 4,9 %).

Une classification schématique des résultats a été entreprise, sont considérés comme négatifs les pourcentages de transformation inférieurs ou égaux à 4, douteux ou légèrement positifs ceux compris entre 4 et 7 et positifs ceux supérieurs à 7.

RESULTATS

Les résultats de 104 CML sont consignés dans le tableau 1 et classés par ordre de valeur décroissante.

Parmi ces expériences, 32 paires ne présentent aucune différence dans les antigènes (1, 2, 3, 7), 15 d'entre elles sont parfaitement négatives et se trouvent être au bas du tableau 1, 11 sont à la limite soit douteuses soit légèrement positives, seulement 6 sont très nettement positives.
La limite entre les positifs et les négatifs est nécessairement un peu arbitraire, toutefois, la corrélation entre les différences en antigènes (1, 2, 3, 7) et le degré de transformation à l'intérieur des limites choisies est significatif ($p < 0{,}001$) au tableau 2.
Si l'on considère les différences individuelles antigéniques et leur corrélation avec le taux des transformations en CML, il existe une corrélation significative pour les antigènes 1, 2, 3 et 7 mais non pour les antigènes 4, 5, 6, 8, 9, I0. Les résultats de ces expériences autorisent à penser que les antigènes 1, 2, 3, 7 sont les antigènes "forts" (15) (16).
On peut voir qu'il n'y a pas contrairement à ce que l'on pourrait attendre, de corrélation entre le nombre de différences antigéniques forts et l'intensité de réponses de la CML (les valeurs moyennes pour des CML comprenant une, deux, trois ou quatre différences antigéniques sont : 11,5 , 13,1 et 15,3 % de transformations).
La moyenne de toutes les CML positives est de 13,5%, la moyenne des CML positives dans les cas où il n'y a pas de différence dans les antigènes 1, 2, 3, 7 est de 8,8 %.
De même le fait que seulement un des membres de la paire diffère de l'autre ou que les deux diffèrent l'un de l'autre ne semble pas influencer directement la

réponse de la CML, bien que les différences effectuées sur les moyennes de ces cas : 10,2 et 13,6 % respectivement suggèrent l'existence d'une réaction quantitative.

Comme BAIN et al (5) nous n'avons pas trouvé de corrélation entre les incompatibilités dans les groupes ABO et le degré de transformation en CML.

Il a été mentionné par HIRSCHHORN et al (34) que les transformations peuvent se voir dans la CML même lorsque les cellules d'un des individus de la paire sont tuées ou si le stimulus antigénique de l'un des membres de la paire est représenté par des cellules immunologiquement incompétentes.

Donc si deux individus d'une paire choisie diffèrent de telle sorte que la différence antigénique forte n'existe que dans un seul sens, dans les deux CML possibles (A = cellule vivante, B = cellule tuée et vice versa) un seul résultat positif doit être obtenu. Cette hypothèse a été testée dans 26 CML (tableau 3).

La CML avec une population cellulaire vivante et une tuée a montré dans chacune de ces expériences une valeur inférieure à celle de la CML où les deux populations cellulaires étaient vivantes. Bien que dans l'ensemble la réponse obtenue ait été celle que l'on attendait, on a toutefois obtenu plusieurs réactions négatives dans le cas où des différences antigéniques fortes étaient représentées (Tableau 4).

Les résultats du tableau (4) sont rangés par ordre de valeur décroissante par rapport aux mixtures vivantes. Dans les expériences où les cellules représentant la stimulation antigénique forte sont tuées, le pourcentage de transformation moyen est supérieur à celui obtenu dans le cas opposé tout en restant nettement inférieur à celui des mixtures vivantes.

Dans le cadre de la réaction où l'une des populations est tuée, la différence entre les deux valeurs obtenues est statistiquement significative.

Ceci suggère que les antigènes 1, 2, 3, 7, interviennent de façon formelle dans la CML. Néanmoins la faible réponse de transformation obtenue, lors de l'utilisation de cellules tuées comme stimulus antigénique demeure inexpliquée.

DISCUSSION

Dans ces expériences le critère de compatibilité est basé sur 10 antigènes tous déterminés par des groupes de sérums identiques (16). Dans

la plupart des expériences les paires ont été soigneusement choisies à partir d'un "panel" de 133 individus (tous typés par des isosérums antileucocytaires pour les 10 antigènes leucocytaires respectifs) afin d'obtenir une similitude ou une différence nette pour les antigènes leucocytaires en question. Les résultats montrent clairement une corrélation entre le résultat de la CML et la différence dans les antigènes (1, 2, 3, 7), il y a aussi d'autres raisons de supposer que ces antigènes sont des antigènes forts de transplantation. (16)

D'autres antigènes paraissent être faibles et semblent incapables de provoquer une forte transformation dans la CML.

Toutefois la série de CML dont les valeurs sont comprises entre 4 et 7% correspond à des combinaisons comportant ou ne comportant pas toujours des différences antigéniques fortes (1, 2, 3, 7). Ceci peut être du à quelques facteurs techniques ou à une reproductibilité limitée du test.

De même les réactions positives obtenues avec des paires "négatives" (c'est à dire ne différant d'un point de vue antigène leucocytaire que par des antigènes faibles) peuvent être dues à l'effet d'addition de ces derniers qui créent ainsi une situation plus complexe.

On ne sait pas non plus clairement pourquoi il n'existe pas de corrélation entre le nombre de différences antigéniques fortes et le résultat de la CML, ni pourquoi le fait de différences antigéniques fortes existant unilatéralement ou dans les deux sens n'influe pas plus directement sur l'intensité de la CML.

Enfin la valeur relativement basse des CML comportant une population tuée demeure inexpliquée et demande des investigations plus poussées de même que le fait de trouver dans certains cas comportant des antigènes forts et où des cellules de l'un des membres de la paire sont tuées, des réactions négatives. On peut penser que la façon de tuer les cellules peut affecter leurs antigènes. D'autres aspects de ce type d'expérience seraient à envisager (doses de cellules tuées tendant à éviter un éventuel effet inhibiteur des cellules tuées, autres processus pour tuer des cellules tels que l'irradiation cellulaire ou les ultrasons).

On a proposé d'utiliser la CML comme un test pour la selection du meilleur donneur dans le cadre des transplantations.

Les faits expérimentaux suggèrent fortement que ce point de vue est pleinement justifié quant à son fondement. Il est évident que la détermination sérologique

du groupe leucocytaire doit être à la base du problème du choix du donneur. En ce qui concerne la CML il semble qu'elle ne détecte que les antigènes les plus forts et qu'à ce titre elle puisse être utilisée comme un contrôle. Ces possibilités du moins dans le domaine de l'application clinique paraissent limitées en dépit des résultats encourageants obtenus.

Une CML positive avec des cellules vivantes signifie de façon très probable que les deux individus diffèrent par des antigènes forts de transplantation. La même chose est encore vraie dans le cas d'une incompatibilité unilatérale mais ici un donneur possible peut passer inaperçu.

D'un autre côté un résultat négatif a une plus grande signification clinique car cela semble donner une probabilité raisonnable pour que les deux individus de la paire en question ne diffèrent pas en antigènes forts de transplantation. Cette conviction repose sur le fait que parmi les 104 CML étudiées, aucune d'entre elles, comportant une différence antigénique forte n'a été négative. Bien que les résultats obtenus dans les expériences avec des cellules tuées unilatéralement reflètent de façon significative le mode d'action des antigènes forts, il y a trop d'exceptions dans ce système pour que l'on puisse l'utiliser en clinique comme un test pour le choix du meilleur donneur.
Toutefois le fait que les résultats de la CML soient le plus souvent concordants avec ceux des techniques sérologiques de détermination des antigènes leucocytaires ou parfois contradictoires constitue un contrôle et peut-être un rectificatif que l'on se doit semble-t-il de considérer.

II - LA CML ET LES LYMPHOCYTES IMMUNS

- Dans ce contexte la CML prend un intérêt particulier si l'on veut bien la considérer comme un reflet probable des mécanismes immunitaires de la cellule, alors même que par une étude parallèle et à l'aide de techniques sérologiques appropriées, il devient possible d'explorer également l'immunité humorale dans un même cas donné. C'est sous cet aspect que l'étude qui va suivre sera envisagée.

- Son objectif principal en est l'obtention d'antisérums les plus monospécifiques possibles en vue d'une détermination ultérieure plus précise et plus large des antigènes de groupe leucocytaire qui doivent faciliter les homogreffes et guider le choix du donneur.

- A cette occasion donc, une étude par la CML des lymphocytes immuns est exécutée.

MATERIEL ET METHODE

Les méthodes utilisées sont identiques aux précédentes en ce qui concerne le test d'HIRSCHHORN de même que pour la détection des anticorps qui se fera par techniques de leucoagglutination et de lymphocytotoxicité (28) (57) (59) (23) décrites ailleurs (15) et qui ne seront pas rapportées ici.

Greffes réciproques et immunisations leucocytaires croisées sont les deux processus d'obtention des immunsérums.

L'étude actuelle est partielle, elle ne porte que sur un nombre limité de cas, à l'intérieur de fratries dans le souci d'avoir le moins de différences antigéniques possibles afin d'obtenir les anti-sérums les plus monospécifiques.

Elle concerne donc trois paires de frères et une paire de demi-frères: il s'agit de sujets bien portants donneurs de sang pour la plupart dont la moyenne d'âge va de 50 à 60 ans. Certains d'entre eux avaient reçu antérieurement au cours des années 1962, 1965 des greffes de peau.

Dans l'expérience actuelle trois paires ont reçu des greffes de peau réciproques selon la technique de RAPAPORT (50), (12), (40), suivies d'immunisations également réciproques par injection intradermique de leucocytes après le rejet de greffe; la quatrième paire n'ayant subi que des immunisations réciproques par injection intradermique de leucocytes.

Les suspensions leucocytaires sont préparées à partir de sang total prélevé sur citrate à raison de 3 ml pour 20 ml de sang, la sédimentation est accélérée par addition d'une solution fluide modifiée isotonique de gélatine (PlasmageIdesodé glucose de Roger Bellon), le surnageant riche en leucocytes est retiré et centrifugé 10 minutes à une vitesse de 700 RPM.

Le culot est repris dans 1 ml d'eau physiologique et sera injecté par voie intradermique de façon progressive selon la technique de BESREDKA, au niveau de la face externe du bras.

Une culture avant greffe ou immunisation est pratiquée de façon systématique sauf dans un cas où elle n'a pu être réalisée.

En fait trois cultures sont préparées simultanément le même jour de façon identique et seront récoltées les 3ème, 5ème et 7ème jours, chacune d'entre elles comporte les témoins négatifs de la paire, une mixture de cellules vivantes, deux mixtures contenant une population de cellules tuées représentant chacun des membres de la paire et enfin des témoins positifs avec phytohémagglutinine pour la culture du 3ème jour uniquement.
Du fait du renouvellement des cultures à intervalle régulier, après immunisation et dans les mêmes conditions que précedemment, les globules rouges sont restitués à leurs donneurs respectifs après chaque prélèvement. Les tests sérologiques chargés de la détection des anticorps sont eux aussi pratiqués de façon régulière et sont souvent contemporains de la CML.

RESULTATS

- Points communs avec les expériences précédentes :

- La CML avant immunisation est positive dans les trois cas où une différence antigénique forte est présente (tableaux 5, 7, 8).
Elle est en contradiction à son profit semble-t-il avec une des formules antigéniques leucocytaires de la quatrième paire envisagée (Tableau 6). En effet la formule antigénique leucocytaire ne révèle aucune différence antigénique. Par contre, la CML donne un pourcentage de transformations élevé indiquant une différence antigénique probable que confirme la réaction unilatérale qui traduit le rejet de greffe de peau dans le sens où il se produit.

- Les mixtures de cellules vivantes ont là aussi un pourcentage de transformations supérieur à celui des mixtures où l'une des populations cellulaires a été tuée par congélations décongélations successives (Cf. tableaux 5, 6, 7, 8). Ceci a été retrouvé chez d'autres auteurs (61).

- Résultats concernant les lymphocytes immuns :

- Les mixtures unilatérales en dépit de leur faible pourcentage de transformations ont permis de prévoir dans chaque cas l'ordre du rejet des deux greffes de la paire considérée.

- On a pu remarquer dans tous les cas (Tableaux 9, 10, 11, 12) l'existence d'une stimulation nettement visible au moment du rejet de la greffe se manifestant par un accroissement du pourcentage de transformations comme en

témoignent les cultures avant et après greffe.
Nette dans les mixtures vivantes, cette différence n'apparait que faiblement et de façon peu significative dans les mixtures où l'une des populations cellulaires a été tuée.

- Cette stimulation, d'importance relative selon les cas, est éphémère, un retour à l'état de prégreffe s'opérant très rapidement en dépit de la poursuite des immunisations réciproques et successives faites d'injections leucocytaires pratiquées à un intervalle de 10 jours en moyenne. Ces résultats concernent les trois paires ayant subi greffes et immunisations réciproques. La paire de frères n'ayant reçu que des immunisations par injection intradermique de leucocytes semble répondre dans la CML par une très faible stimulation suivant la première immunisation (Tableau 12); par la suite les injections répétées de leucocytes n'apportent aucune modification au niveau de la CML.
Cette stimulation que l'on retrouve au moment du rejet de greffe a été décrite chez l'homme (47) et chez les animaux (37) par d'autres auteurs.

Il est à noter que le maximum de stimulation est visible au troisième jour de culture, les différences avant et après greffe étant particulièrement nettes à ce moment précis et s'estompant aux 5ème et 7ème jours.

Sur un autre plan qui est celui de la détection des anticorps sériques, on remarque que dans les trois paires greffées, l'apparition des anticorps sériques a coincidé approximativement avec le retour à la normale de la CML.
Dans la paire immunisée les anticorps sériques n'apparaissent que très tardivement au bout de la cinquième immunisation, là encore la CML est revenue à la normale.

DISCUSSION

- Le renouvellement des expériences a permis de considérer la reproductibilité de la CML qui s'est avérée être ici satisfaisante. En particulier dans le cas de réactions unilatérales avec une population de cellules tuées, le résultat de la CML a toujours été dans le sens attendu sauf dans un cas (Tableau 7) où l'inverse a été observé.

- Les témoins positifs en présence de PHA ont répondu de façon à peu près constante dans un ordre de grandeur variant de 70 à 80% de transformations.

- Une plus grande variabilité s'observe dans les témoins négatifs témoignant d'une réactivité individuelle propre en l'absence de tout stimulus décelable, qui ne semble pas du reste interférer avec leurs comportements ultérieurs lorsqu'ils sont mis en présence de lymphocytes étrangers.

- Dans les trois paires greffées considérées nous avons constaté que la stimulation survenait au moment du rejet de la greffe vers les 12ème et 13ème jours (Tableaux 9, 10, 11), qu'elle était nettement plus visible au 3ème jour qu'aux 5ème, et 7ème jours, témoignant ainsi d'une réponse cellulaire plus précoce.

L'aspect quantitatif est variable selon les cas : l'intensité de la réponse est plus ou moins grande sans jamais être considérable.

La précocité de la réaction se retrouve par contre avec une certaine constance dans les trois cas envisagés.

- Il est étonnant de voir que les immunisations successives d'injections leucocytaires suivant le rejet de greffe, en dépit de l'importance relative des doses utilisées (selon les cas 16, 110, 180 millions de leucocytes) ne provoquent aucune réponse cellulaire au niveau de la CML.

- Par ailleurs nous avons signalé l'apparition successive des phénomènes cellulaires et humoraux, le retour à la normale de la CML; après une phase d'accroissement, coincidant avec l'apparition des anticorps circulants décelés par les techniques de leuco-agglutination et de lymphocytotoxicité; comme si les phénomènes immunitaires humoraux prenaient le relai des mécanismes immunitaires cellulaires.

- Les lymphocytes d'un donneur peuvent donc induire in vitro une transformation accrue des lymphocytes du receveur après que celui-ci ait développé une réaction immune vis à vis de la peau du donneur. Réciproquement, on sait que l'administration in vivo au receveur de leucocytes du donneur a pour résultat le rejet accéléré de la greffe de peau. Ceci indique que la peau et les leucocytes ont en commun quelques déterminants antigéniques d'histo-compatibilité et suggère que l'augmentation du nombre de transformations obtenue lors de la mise en culture des cellules du donneur et du receveur de peau après le rejet de la peau du donneur est un reflet de la réaction d'homogreffe.

OPPENHEIM et al ont montré que la prolifération lymphocytaire accrue, obtenue après une seconde greffe apparaissait plus tôt, persistait moins longtemps mais était quantitativement similaire à celle obtenue au moment du rejet de la

première greffe. Donc les changements dans l'indice du rejet de greffe in vivo sont reflétés par des changements dans le temps d'apparition de la prolifération lymphocytaire in vitro.

Ceci suggère que des études en série d'une transplantation thérapeutique, rénale par exemple, peuvent détecter l'apparition du rejet de greffe et souligne l'intérêt de la CML dans ce cas particulier.

:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

CONCLUSION

La technique du test de culture mixte lymphocytaire (CML) (4) a été mise au point par une adaptation et des modifications mineures du test décrit par HIRSCHHORN (2).

1° - La corrélation de ce test avec le degré de différence antigénique leucocytaire a été établie. 104 CML ont été effectuées en utilisant un mélange de lymphocytes vivants d'individus normaux dont les antigènes leucocytaires étaient connus (15). Il a été remarqué qu'il existe une corrélation statistiquement significative(p 0,001) entre la positivité du test de culture mixte lymphocytaire (CML)et une différence antigénique entre les 2 populations de lymphocytes portant au moins sur l'un des 4 antigènes 1 (Mac), 2, 3, (4^a), 7, (4^b). La CML a été trouvée positive (pourcentage de cellules transformées 7% dans 63 cas; ou légèrement positive (pourcentage de cellules transformées compris entre 4 et 7%) dans 9 cas dont les membres de la paire différaient dans au moins un des antigènes précités. Elle a été trouvée négative (pourcentage de cellules transformées 4%) dans 15 cas dans lesquels n'existait aucune différence antigénique de cet ordre. Cependant, six autres paires ont été trouvées positives et 11 légèrement positives malgré l'absence de différences dans les antigènes 1, 2, 3 ou 7.

La même corrélation a été étudiée en mélangeant les cellules lymphoïdes vivantes d'un individu avec les cellules tuées d'un autre individu. Elle a été retrouvée dans 52 cas mais moins significative de par la faible valeur de la réaction unilatérale.

Ces résultats doivent être rapprochés des corrélations obtenues, par ailleurs, (15) entre les groupes leucocytaires et la survie des greffes de peau, ils con-

firment l'observation que les mêmes antigènes 1 (Mac), 3 (4^a), 7 (4^b) sont des antigènes d'histocompatibilité et probablement les plus forts chez l'homme. La CML peut donc être considérée comme une préfiguration in-vitro d'une greffe et peut donc servir à l'étude préalable de l'histocompatibilité entre un receveur et un éventuel donneur.

2° - La CML pratiquée avec les cellules vivantes du receveur après greffe permet une appréciation de la réaction in-vivo : c'est ce qui fait l'intérêt de la deuxième partie de cette étude :

L'évolution de la culture mixte des lymphocytes de 4 paires d'individus immunisés d'une façon croisée a été suivie. Il s'agissait de 3 paires de frères et d'une paire de demi-frères. L'immunisation a été faite dans 3 cas par greffes de peau réciproques suivies d'injections intra-dermiques de leucocytes et dans un cas seulement par des injections I.D. de leucocytes. Il a été observé que le degré de transformation lymphocytaire atteint un pic au moment du rejet de greffe ou après la première injection immunisante, puis revient dans les dix jours qui suivent aux chiffres antérieurs à l'immunisation. Les anticorps leucocytaires apparaissent le plus souvent à ce moment.

Ces observations jettent une lumière sur les mécanismes intimes de réponse immunitaire, montrant qu'il semble exister un balancement entre l'immunisation de type cellulaire (responsable des transformations lymphocytaires) et l'immunisation de type humoral (responsable des anticorps circulants).

SCHEMA D'IMMUNISATION ET RESULTATS DES TESTS IMMUNOLOGIQUES

- Tests des anticorps humoraux = CYTO : Test de lymphocytotoxicité. Les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules tuées dans la réaction et titre du sérum donnant une réaction positive.

  = LA : Test de leucoagglutination. Les résultats sont exprimés en intensité d'agglutination et titre du sérum donnant une réaction positive.

- Culture Mixte de Lymphocytes = CML : Faites avec les deux populations cellulaires vivantes ou avec une des deux populations tuées. Les cultures sont examinées aux 3°, 5°, 7° jours de culture. Les résultats sont exprimés en pourcentage de transformations + mitoses.

- A + B = CML avec deux populations de cellules vivantes.
  A + $\not{B}$ = CML avec une population de cellules vivantes et une population de
  $\not{A}$ + B = cellules tuées.

TABLEAU 2

ETUDE PAR LE CML
de 104 PAIRES DE SUJETS NORMAUX
PRESENTANT DIVERS DEGRES D'INCOMPATIBILITES LEUCOCYTAIRES

Résultats de la CML	Différences dans les antigènes 1, 2, 3, 7	
	Présents	Absents
positifs $>7\%$	63	6
légèrement positifs ou douteux $>4\%$ et $\leqslant 7\%$	9	11
négatifs $\leqslant 4\%$	0	15

TABLEAU 3

ETUDE PAR LE CML

DE 26 PAIRES DE SUJETS NORMAUX

PRESENTANT DIVERS DEGRES D'INCOMPATIBILITES LEUCOCYTAIRES

Donneurs de lymphocytes		% de transformations et de mitoses			Différences en antigènes	
A	B	A + B (1)	A + B (2)	A + B (2)	A ⟶ B (3)	B ⟶ A (3)
10	92	23,0	10,5	7,7	1, 4, 6	-
37	59	20	11,0	3,6	3, 5, 6, 10	-
19	118	18,0	12,0	1,7	1, 2, 7	-
42	29	17,0	15,0	4,2	4, 7, 8, 10	-
65	130	16,6	6,8	1,1	1, 2	-
79	97	15,1	5,5	2,3	4, 7	-
84	124	15,0	8,0	10,0	2, 3, 4	-
105	130	15,0	5,8	3,9	2, 3	-
32	120	12,2	5,8	2,4	1, 2, 3, 6	-
19	100	11,0	7,7	4,9	1, 6, 7	-
41	102	10,1	7,6	5,4	1, 8	-
41	102	10,1	4,3	7,4	1, 8	-
11	97	9,4	2,1	4,5	1, 5	-
27	9	8,7	6,6	0,7	6, 7, 10	-
38	115	7,8	2,6	1,8	1, 2, 7, 6	-
31	69	5,3	2,0	2,0	3	-
83	125	24,2	9,7	2,8	2, 3, 4	6
31	125	21,0	9,0	2,2	1, 2, 3, 9, 10	6
37	77	14,1	1,0	2,5	1, 5, 6, 10	4
33	100	10,6	8,5	6,4	1, 5, 6	4
19	33	10,0	7,8	5,5	4, 7	5
9	8	9,2	7,1	0,7	7	9, 10
93	75	9,1	6,8	3,5	5, 6, 7	4
27	20	8,4	5,8	1,1	6, 7	9
32	15	8	2,5	5,7	6, 7	4, 9
32	35	6	0,5	0,9	7	5, 9, 10

(1) CML avec deux populations de cellules vivantes.

(2) CML avec une population de cellules vivantes, l'autre tuée.

(3) Le sens de la flèche indique la direction de la greffe envisagée donneur ⟶ receveur.

TABLEAU 4

ETUDE PAR LE CML
DE 52 PAIRES DE SUJETS NORMAUX
PRESENTANT DIVERS DEGRES D'INCOMPATIBILITES LEUCOCYTAIRES

Résultats de la CML	Différences dans les antigènes 1, 2, 3, 7	
	Présents	Absents
positifs > 7%	12	3
légèrement positifs ou douteux > 4% et < 7%	8	7
négatifs ≤ 4%	6	16

GEORGES et ANTONY L ..... TABLEAU 5

Incompatibilités leucocytaires : =

dans le sens A donneur, G receveur : antigènes 3 et 6
dans le sens G donneur, A receveur : antigènes

Culture avant greffe		
non faite		
Première culture après greffe - 18.1.1966 - 12ème jour		
3ème jour A + G = 11,3% Ⱥ + G = 4,1% A + Ⱥ = 1,8% A - = 0,6% G - = 1,2%	5ème jour A + G = 15,2% Ⱥ + G = 6,9% A + Ⱥ = 0,9% A - = 0,7% G - = 2,2%	7ème jour A + G = 22,2% Ⱥ + G = 8,4% A + Ⱥ = 3,1% A - = 1,4% G - = 3,6%
Deuxième culture après greffe - 31.1.1966 - 25ème jour		
3ème jour A + G = 1,4% Ⱥ + G = 1,0% A + Ⱥ = 0,3% A - = 0,8% G - = 0,1%	5ème jour A + G = 9,4% Ⱥ + G = 6,1% A + Ⱥ = 1,8% A - = 4,1% G - = 2,0%	7ème jour A + G = 15,0% Ⱥ + G = 6,3% A + Ⱥ = 5,0% A - = 4,1% G - = 4,6%
Troisième culture après greffe - 15.2.1966 - 40ème jour		
3ème jour A + G = 3,2% Ⱥ + G = 1,4% A + Ⱥ = 1,2% A - = 1,4% G - = 1,9%	5ème jour non faite	7ème jour A + G = 16,7% Ⱥ + G = 7,6% A + Ⱥ = 6,4% A - = 3,6% G - = 4,2%

- Les chiffres représentent les pourcentages de transformations plus mitoses.
- A + B = CML avec deux populations de cellules vivantes,
- Ⱥ + B (CML avec une population de cellules tuées et une population de
- A + Ⱥ (cellules vivantes.

Q ..... & D .....

TABLEAU 6

Incompatibilités leucocytaires : =

dans le sens Q donneur D receveur :
dans le sens D " Q " :

Culture avant greffe : 5.1.1966		
3ème jour Q + D = 1,5% Q + Ø = 1,1% Ø + D = 0,6% Q − = 0,9% D − = 0,3%	5ème jour Q + D = 17,6% Q + Ø = 7,0% Ø + D = 2,4% Q − = 1,2% D − = 0,5%	7ème jour Q + D = 24,1% Q + Ø = 6,8% Ø + D = 2,4% Q − = 1,8% D − = 1,7%
1ère culture après greffe : 19.1.1966 − 14ème jour		
3ème jour Q + D = 14,1% Q + Ø = 5,4% Ø + D = 1,9% Q − = 1,0% D − = 1,1%	5ème jour Q + D = 20,4% Q + Ø = 6,0% Ø + D = 2,3% Q − = 3,0% D − = 3,5%	7ème jour Q + D = 31,5% Q + Ø = 7,2% Ø + D = 2,2% Q − = 3,6% D − = 4,1%
2ème culture après greffe : 22.2.1966 − 47ème jour		
3ème jour Q + D = 9,8% Q + Ø = 6,7% Ø + D = 1,8% Q − = 1,6% D − = 1,6%	5ème jour Q + D = 25,6% Q + Ø = 9,9% Ø + D = 2,3% Q − = 1,5% D − = 4,6%	7ème jour Q + D = 17,8% Q + Ø = 10,4% Ø + D = 6,4% Q − = 3,2% D − = 4,6%

René et Henri R. .....

TABLEAU 7

Incompatibilités leucocytaires : =

Dans le sens R donneur H receveur : antigène 7

dans le sens H donneur R receveur : -

Culture avant greffe : 29.12.1965		
3ème jour H + R = 1,2% H + R̸ = 0,9% H̸ + R = 0,6% H - = 0 % R - = 0 %	5ème jour H + R = 13,0% H + R̸ = 5,4% H̸ + R = 2,3% H - = 1,0% R - = 1,2%	7ème jour H + R = 17,0% H + R = 10,2% H̸ + R = 4,1% H - = 1,7% R - = 2,0%
1ère culture après greffe : 10.1.1966 - 12ème jour		
3ème jour H + R = 6,2% * H + R̸ = 2,3% * H̸ + R = 5,6% H - = 1,7% R - = 0,9%	5ème jour H + R = 17,6% * H + R̸ = 1,7% * H̸ + R = 3,0% H - = 3,1% R - = 2,5%	7ème jour H + R = 25,4% * H + R̸ = 2,3% * H̸ + R = 6,4% H - = 3,2% R - = 3,5%
2ème culture après greffe : 21.1.1966 - 22ème jour		
3ème jour H + R = 3,4% H + R̸ = 1,4% H̸ + R = 0,8% H - = 0,8% R - = 0,4%	5ème jour H + R = 16,3% H + R̸ = 5,9% H̸ + R = 1,9% H - = 1,8% R - = 1,5%	7ème jour H + R = 18,9% H + R̸ = 6,2% H̸ + R = 1,6% H - = 2,6% R - = 2,4%
3ème culture après greffe : 2.2.1966 - 34ème jour		
3ème jour H + R = 0,8% H + R̸ = 0,7% H̸ + R = 0,2% H - = 1,3% R - = 0,5%	5ème jour H + R = 7,5% H + R̸ = 5,4% H̸ + R = 0,8% H - = 2,6% R - = 0,2%	7ème jour H + R = 10,1% H + R̸ = 7,0% H̸ + R = 0,7% H - = 2,7% R - = 0,9%
4ème culture après greffe : 18.2.1966 - 43ème jour		
3ème jour H + R = 3,2% H + R̸ = 0,3% H̸ + R = 0,1% H - = 1,4% R - = 0,6%	5ème jour H + R = 8,2% H + R̸ = 4,3% H̸ + R = 0,9% H - = 1,4% R - = 0,8%	7ème jour H + R = 11,3% H + R̸ = 6,1% H̸ + R = 0,8% H - = 4,9% R - = 4,2%

Raymond et Léon R. .....

TABLEAU 8

mpatibilités) dans le sens L donneur R receveur : 3
ocytaires) dans le sens R donneur L receveur : 9, 10

Culture avant immunisation : 13.12.1965			
3ème jour L + R = 3,3%	5ème jour L + R = 15%	7ème jour L + R = 28,4%	
L + R = 0,8%	L + R = 5%	L + R = 9,0%	
L + R = 0,4%	L + R = 2,9%	L + R = 4,1%	
L − = 0,2%	L − = 3,2%	L − = 3,4%	
R − = 0,1%	R − = 2,3%	R − = 3,2%	
Culture avant immunisation : 17.12.1965			
3ème jour L + R = 2,3%	5ème jour L + R = 14,3%	7ème jour L + R = 21,4%	
L + R = 2,0%	L + R = 6,3%	L + R = 11,0%	
L + R = 1,6%	L + R = 2,5%	L + R = 4,9%	
L − = 1,1%	L − = 4,4%	L − = non fait	
R − = 0,9%	R − = 4,2%	R − = " "	
1ère culture après 1ère immunisation : 31.12.1965 − 11ème jour			
3ème jour L + R = 5,9%	5ème jour L + R = 23,9%	7ème jour L + R = 28,0%	
L + R = 4,2%	L + R = 7,6%	L + R = non fait	
L + R = 2,1%	L + R = 3,0%	L + R = 4,6%	
L − = 1,9%	L − = 3,0%	L − = non fait	
R − = non fait	R − = non fait	R − = " "	
2ème culture après 2ème immunization : 12.1.1966 − 23ème jour			
3ème jour L + R = 5,2%	5ème jour L + R = 12,4%	7ème jour L + R = 26,5%	
L + R = 2,4%	L + R = 4,9%	L + R = non fait	
L + R = 1,6%	L + R = 2,4%	L + R = " "	
L − = 1,0%	L − = 1,0%	L − = " "	
R − = 0,9%	R − = 1,7%	R − = " "	
3ème culture après 3ème immunisation : 25.1.1966 − 36ème jour			
3ème jour L + R = 2,4%	5ème jour L + R = 14,2%	7ème jour L + R = 15,7%	
L + R = 0,9%	L + R = 5,1%	L + R = 9,2%	
L + R = 0,6%	L + R = 2,0%	L + R = 5,0%	
L − = 0,7%	L − = 1,5%	L − = 3,1%	
R − = 0,6%	R − = 1,2%	R − = 2,8%	
4ème culture après 6ème immunisation : 21.2.1966 − 63ème jour			
3ème jour L + R = 3,4%	5ème jour L + R = 10,0%	7ème jour L + R = 14,1%	
L + R = 1,7%	L + R = 4,5%	L + R = 7,7%	
L + R = 0,6%	L + R = 1,7%	L + R = 4,3%	
L − = 0,1%	L − = 2,6%	L − = 2,7%	
R − = 0,8%	R − = 1,8%	R − = 4,1%	

TABLEAU 9

(voir légende en fin de tableaux)

<u>leucocytaires</u>	7	2	1	3	4	5	6	7	8	?	9	10	?
Georges L		+	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
Antony L		+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-

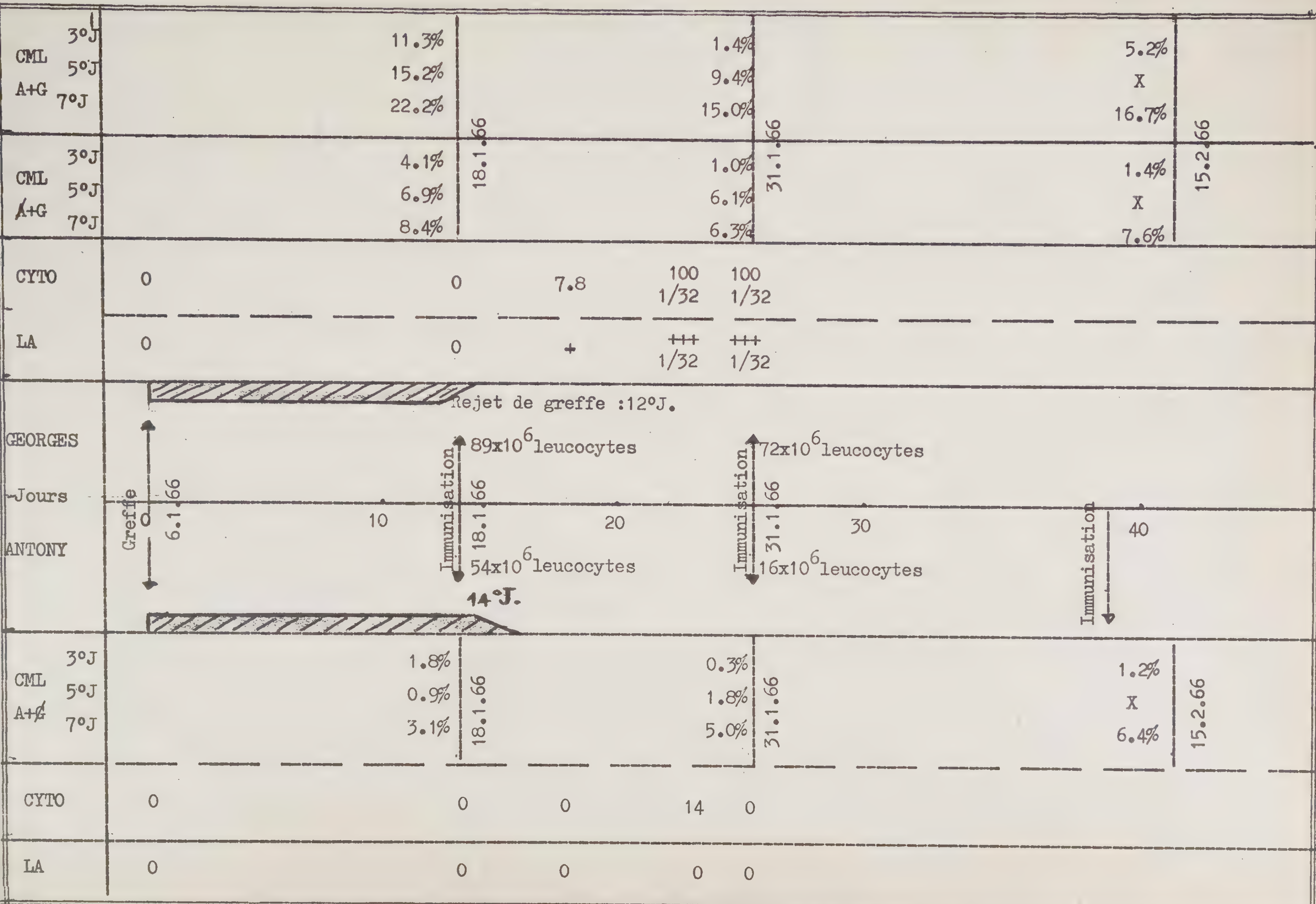
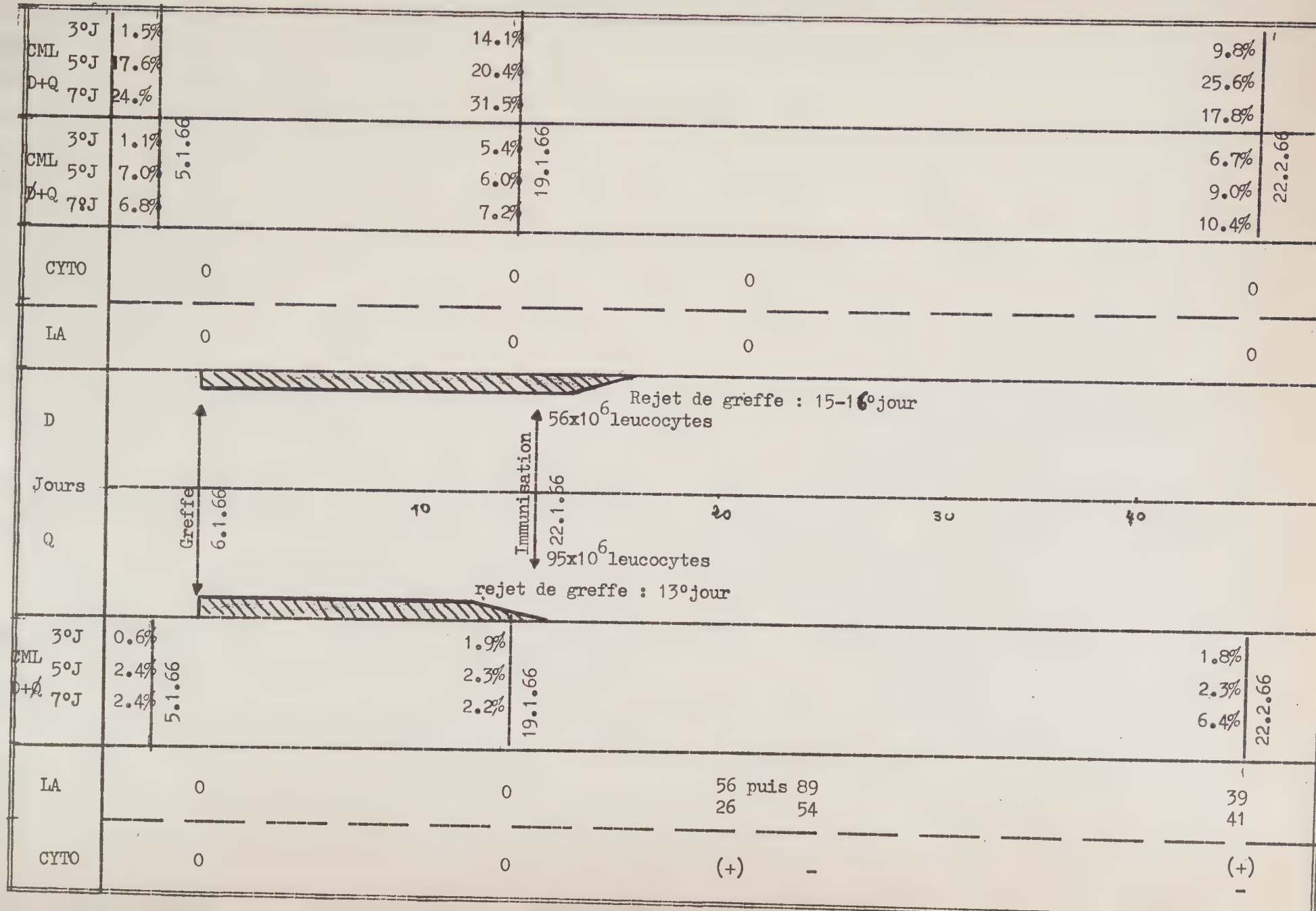


TABLEAU 10

(voir légende en fin de tableaux)

leucocytaires	2	1	3	4	5	6	?	7	8	?	9	10	?
Q	+	+	−	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−
D	+	+	−	−	−	−	−	+	−	−	+	+	−



leucocytaires 7 8 ? 9 10 ?

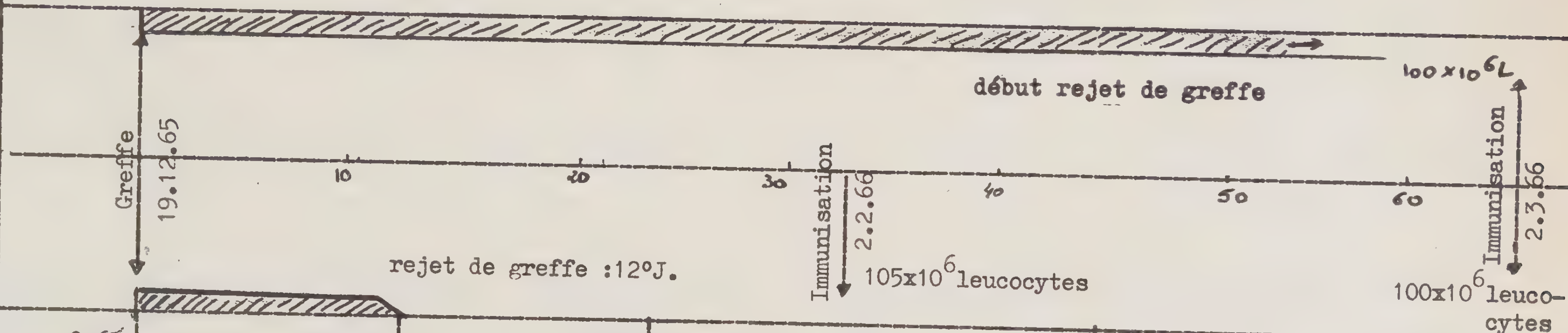
TABLEAU XI

(voir légende en fin de tableaux)

Henri R	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	?	+	+
René R	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	?	+	+

			19.12.65		10.1.66		21.1.66		18.2.66
CML R+M	3°J	1.2%		6.2%		3.4%		3.2%	
	5°J	13.0%		17.6%		16.3%		8.2%	
	7°J	17.0%		25.4%		18.9%		11.3%	
CML R+H	3°J	0.9%		2.5%		1.4%		0.3%	
	5°J	5.4%		1.7%		5.9%		4.3%	
	7°J	10.2%		2.3%		6.2%		6.1%	

CYTO	0	0	0	0	0	1 / ½	6 / 10
LA	0	0	0	0	0	-	



			19.12.65		10.1.66		21.1.66		18.2.66
CML R+H	3°J	0.6%		5.5%		0.8%		0.1%	
	5°J	2.3%		3.0%		0.9%		0.9%	
	7°J	4.1%		6.4%		1.6%		0.8%	

CYTO	0	0	0	8	0	1.100 / ½	7j.
LA	0	0	0	0	0	1 / ½	(+) / -

leucocytaires)

(voir légende en fin de tableaux)

Raymond R..... + + − − − + + + + ± + + +
Léon R .... + + + − − + + + + + − − +

ML +L	3°J	3.3	2.3		5.9%	5.2%		2.4%			3.4%
	5°J	15.0	14.3		23.0%	12.4%		14.2%			10.0%
	7°J	28.4	21.4		28.0%	26.5%		15.7%			14.1%
					31.12.65	12.1.66		25.1.66			21.2.66
ML R+L	3°J	0.8	2.0		4.2%	2.4%		0.9%			1.7%
	5°J	5.2	6.3		7.6%	4.9%		5.1%			4.5%
	7°J	9.0	11.0		X	X		9.2%			7.7%
CYTO					0	0		0		25	17
LA					0	0		0		0	[illegible]
				$79x10^6$ leucocytes	$113x10^6$ leucocytes	$92x10^6$ leucocytes	$56x10^6$ leucocytes		$102x10^6$ leuc.	$107x10^6$ leuc.	$119x10^6$ leuc.
Jours				Immunisation 21.12.65	31.13.65	12.1.66	19.1.66		7.2.66	14.2.66	21.2.66
				$105x10^6$ leucocytes	$182x10^6$ leucocytes	$85x10^6$ leucocytes	$52x10^6$ leucocytes		$146x10^6$ leuc.	$129x10^6$ leuc.	$52x10^6$ leuc.
CML R+L	3°J	0.4	1.6		2.1%	1.6%		0.6%			0.6%
	5°J	2.9	2.5		3.0%	2.4%		2.0%			4.7%
	7°J	4.1	4.9		4.6%	X		5.0%			4.3%
					31.12.65	12.1.66		25.1.66			21.2.66
CYTO					0	0		0		8	
LA					0	0		0		+	

Vulle Président de Thèse

Professeur Jean BERNARD

Vu le Doyen de la Faculté

Professeur G. BROUET

Vu et Permis d'Imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris

Jean ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

1 - BACH F., et HIRSCHHORN K : Seminars in Hematology - 2-68-98 - 1965 -

2 - BACH F., et HIRSCHHORN K : Exp. Celle Res. 32 - 592-595 - 1963 -

3 - BACH F., et HIRSCHHORN K : Science 143 813-819 - 1964 -

4 - BAIN B., VAS M., LOWENSTEIN L : Fed. Proc. 22,428 - 1963 -

5 - BAIN B., VAS M., LOWENSTEIN L : Blood 23 108-116 - 1964 -

6 - BAIN B., LOWENSTEIN L : Science 145 1315-1316 - 1964 -

7 - BILLINGHAM R.E., SILVERS W.K., WILSON D.B. J. Exp. Medecine 118 397-420 - 1963 -

8 - BRENT L., MEDAWAR P.B. Brit. Med. J. II : 269-272 - 1963 -

9 - DE BRUYN P.P.H. Anat. Rec. 93 295-307 - 1945 -

10 - BUSSARD A.E. BINET J.L. Nature 205 675_678 - 1965 -

11 - CASTAIR S.K. Lancet I, 829-832 - 1952 -

12 - CONVERSE J.M., RAPAPORT F.T. Ana. Surg 143-306 - 1956 -

13 - DAUSSET J Acta hematologica , 720-+ 156 - 1958 -

14 - DAUSSET J Presse Médicale 74, 707-712 - 1966 -

15 - DAUSSET J, IVVANYL P., IVANYL D Histocompatibility Testing Munksgeard Copenhagen 51-63 - 1965 -

16 - DAUSSET J, RAPAPORT F, IVANYL P, COLOMBANI J : Histocompatibility testing 63-73 Munksgaard Copenhagen - 1965 -

17 - DOUGHERTY T.F., CHASE J.H., WHITE A Roc Soc Exp. Biol. et Med 57 295-298 - 1944 -

18 - DOWNEY H. Clin Med 45 499-507 - 1955 -

19 - EHRICH W.E, HARRIS T.N. J. Exp. Med 76 335-348 - 1942 -

20 - ELKINS W.E. J. Exp. Med. 120 329-348 - 1964 -

21 - ELVES M.W., ROATH S, ISRAEL M.C.G. Lancet I 806-807 - 1963 -

22 - ELVES M.W., ROATH S, ISRAEL M.C.G. Lancet I 1292-93 - 1963 -

23 - ENGELFRIET C.P., EYVOGEL V.P. Vox sanguinis, 10, 228 - 1965 -

24 - FAGREUS A Acta Medica Scand. supp 204 1-128 - 1948 -

25 - FAGREUS A J. Immunology 58, - 1948 -

26 - FAVIER Y, VIETTE M., SAINT PAUL M., DUPLAN J.F.
Nouv. Rev. Française d'Hématologie 1, 872-879 - 1961 -

27 - FISHMAN M J. Exp. Med 114, 837-856 - 1961 -

28 - GORER P.A., GORMAN P.O. Transplent Bull 3, 142 - 1956 -

29 - GRASBECK R, NORDMAN C, DE LA CHAPELLE A Lancet II 385-86 - 1963 -

30 - GRAY J.G., RUSSEL P.S. Lancet II 1863-865 - 1963 -

31 - HARRIS T.N., GRIMM E., MERTENS, ENRICH W.E.
J. Exp Med 81, 73-83 - 1945 -

32 - HASHEM N., ROSEN F.S. Lancet 201, 202 - 1964 -

33 - HASHEM N., CARR DH Lancet 2 1030, 31 - 1963 -

34 - HIRSCHHORN K., BACH F., KOLODNY R.L., FIRSHCHEIN, HASHEM N
Science 142 1185-87 - 1963 -

35 - HIRSCHHORN K, BACH F Histocompatibility testing, Ed R.K.
Caunan, Nat. Acad. Sci. Publ. 1229, 177-179,
WASHINGTON - 1965 -

36 - HOLMM G, PERLMANN P., WERNER B, Nature 203 841-843 - 1964 -

37 - JACKSON J.F., MOYNIHAN P.C., HARDY J.D. Cli. Res. 13,69 - 1965 -

38 - JORDAN H.E. Anat. Rec 119 : 325 - 347 - 1954 -

39 - LAWRENCE H.S. Proc Soc Exp Biol and Med. 71 511-522 - 1949 -

40 - LAWRENCE M.S., RAPAPORT F.T., CONVERSE J.M. and TILIET W.S.
J. Clin. Invest. 39, 185 - 1960 -

41 - LEDUC E.H., COONS A.H., CONNOLY J.M. J. Exp. med 102 61-72 - 1955 -

42 - LYCETTE P.R, PEARMAIN G.E. Lancet 2, 386 - 1963 -

43 - MAC KINNEY AA., STOHLMAN F., BRECHER G. Blood 19, 349-358 - 1962 -

44 - MAC MASTER P.D., KIDD J.G. J. Exp. med 66, 73-100 - 1948 -

45 - NOSSAL G., MAKELE O Ann. Rev. Microbio 16, 53-74 - 1962 -

46 - NOWELL P.C. Cancer Research 20 462-66 - 1960 -

47 - OPPEINHEIM J, WHANG J., FREI E J. Exp. Med 122 651-664 - 1965 -

48 - PEARMAIN G., LYCETTE R.P., FITZGERALD P.H. Lancet I 637-638 1963 -

49 - PORTER K.A., COOPER E.H. J. Exp. Med. 115 917-1008 - 1962 -

50 - RAPAPORT F.T., CONVERSE J.M. Ana. Surg 147 273 -1958 -

51 - ROBBINS J.H. Science 146 1648-1654 - 1964 -

52 - ROBERTS J.C., DIXON F.J., WEIGLE WO
A.M.A. Arc. Path 64 324-332 - 1957 -

53 _ ROBINOWITZ Y Blood 23 811-828 - 1964 -

54 - ROOD JJ VAN, LEEUWEN A., SCHIPPERS A., FREDERICKS E., BALNER H., EERNISSE J.G. Histocomp. Testing 37-51 Munksgaard Copenhagen - 1965 _

55 - STAVITSKY J. Immunology 75 214 224 - 1955 -

56 -SCHREOK R, STEFANI S.S. Fed Proc 22 428 - 1963 _

57 - TERASKI P.I., Mc CLELLAND J.D. J. Exp. Med 117 675 - 1963 -

58 - THIERY J.P. J. Microscopie I 275-286 - 1962 -

59 - WALFORD R.L., GALLAGHER R., SJAARDA J.R. Science 144 866-870 - 1964 -

60 - WESSLEN T. Acta Scandinavia 26 38-53 - 1952 _

61 _ WITT de C.W. Histocompatibility Testing 125-135 Munskgaard Copenhagen

62 _ YOFFEY J/M Lancet I 206-211 _ 1962 -

63 - YOFFEY J.M. RICH W.J., TIDMAN M.K., CUMMING B.H., ROY R.R. Ann. N.Y Acad. Scie. 113 1053-1065 - 1964 -